# 横断山区六种八居群鼠尾草属植物的核型分析

李文胜[1]，金泓燕[2]，黄愿如[1]，李志敏[1,3]，孙文光[1,2,3*]
（1. 云南师范大学 生命科学学院，昆明 650500；2. 中国科学院昆明植物研究所 生物多样性与生物地理学重点实验室，昆明 650204；3. 云南师范大学 云南省生物质能与环境生物技术重点实验室，昆明 650500）

**摘要：**鼠尾草属(*Salvia*)是唇形科(Lamiaceae)最大的属，属下多种为民间常用草药，亦有供观赏的种类。为探究横断山区物种在细胞学水平的进化方式，讨论形态分类学与分子系统学之间的分类关系，本研究通过广泛收集染色体文献资料，采用植物常规压片法对采集自横断山地区 6 种 8 居群鼠尾草属植物进行核型分析，并构建了中国地区分布的鼠尾草属植物叶绿体系统发育树。统计结果表明：(1)全世界范围内约 23%的鼠尾草属植物染色体数据有报道，其中分布在中国地区的鼠尾草属植物染色体报道率为 32.10%，分布在横断山地区的鼠尾草属植物报道率为 40.54%，(2)鼠尾草属植物染色体基数以 x = 8 和 x = 11 为主，分布在中国地区的鼠尾草属植物染色体基数均为 x = 8；实验结果表明：(1)西藏鼠尾草(*S. wardii*)核型数据为首次报道。(2)雪山鼠尾草(*S. evansiana*)首次在云南德钦地区发现二倍体居群。将细胞学数据结合叶绿体进化树开展染色体进化关联分析，论证多倍化可能不是鼠尾草属物种适应高海拔环境的主要机制，表明多倍体不是该属物种形成的主要进化途径而是以二倍体水平为主，推测染色体组的加倍可能是造成物种在形态学与分子系统学上分类关系不一致的原因之一。本研究丰富了横断山区鼠尾草属植物的染色体核型数据，结合区域分子系统树探讨染色体特征的进化关系，为今后深入研究该属物种的核型进化做出了探索，为开展祖先物种染色体基数推演分析补充了基础数据。

**关键词：**横断山区，鼠尾草属，核型分析，染色体进化，系统发育

**中图分类号：**Q948　　　　**文献标识码：**A

# Karyotype analysis of eight populations of six *Salvia* species in the Hengduan Mountains

LI Wensheng[1], JIN Hongyan[2], HUANG Yuanru[1], LI Zhimin[1,3], SUN Wengaung[1,2,3*]
(1. *College of Life Sciences*, *Yunnan Normal University*, Kunming 650500, China；2. *Key Environmental Biotechnology, Yunnan Normal University*, Kunming 650500, China; 3. *Key Lab of Yunnan Province for Biomass Energy and Environmental Biotechnology*, *Yunnan Normal University*, Kunming 650500, China)

**Abstract**: The *Salvia* is the largest genus of the Lamiaceae. Several species of *Salvia* are used as traditional Chinese medicine, as well as ornamental species. To explore the evolution pattern of species in Hengduan Mountains at the cytological level and to discuss the taxonomic relationship between morphological taxonomy and molecular systematics, this study is based on extensive collection of chromosome literature and the karyotypes of 6 species(8 populations) of *Salvia* collected from Hengduan Mountains were analyzed by using conventional plant pressing method, and the chloroplast phylogenetic trees of *Salvia* distributed in China were constructed. The statistical results were as

**基金项目：**国家基金-云南省联合基金重点项目（U1802232）；国家自然科学基金（31960046）；第二次青藏高原综合科学考察研究（2019QZKK0502）；云南省基础研究专项-青年项目（202201AU070057）。

**第一作者：**李文胜（1996-），硕士研究生，主要从事高山植物进化生物学研究，（E-mail）winsherli@163.com。
*****通信作者：**孙文光，博士，主要从事植物细胞学、系统与进化植物学研究，（E-mail）sunwenguang@vip.163.com。

follows: (1) About 23% of the chromosome data of *Salvia* have been reported all over the world, in which the chromosome reporting rate of *Salvia* in China is 32.10%. The reporting rate of *Salvia* in Hengduan Mountains is 40.54%. (2) The chromosome basic number of *Salvia* are mainly x = 8 and x = 11, and the chromosome cardinal numbers of *Salvia* plants distributed in China are x = 8. The experimental results were as follows: (1) The karyotype data of *S. wardii* is reported for the first time. (2) The diploid population of *S. evansiana* is found for the first time in Deqen, Yunnan. The chromosome evolutionary association analysis was carried out by combining cytological data with chloroplast evolution tree, and it was demonstrated that polyploidy may not be the main mechanism of *Salvia* adapting to high altitude environment. It shows that polyploid is not the main evolutionary pathway of *Salvia* plants species formation, but mainly at the level of diploid. So we speculated that the doubling of genome may be one of the reasons for the inconsistency between species morphology taxology and molecular phylogeny taxology. This study enriches the chromosome karyotype data of *Salvia* in Hengduan Mountains, discusses the evolutionary relationship of chromosome characteristics combined with regional molecular phylogenetic tree, it has made exploration for further study of the karyotype evolution of *Salvia* plants in the future. And it complements the basic data for the deduction and analysis of the chromosome cardinal number of ancestral species.

**Key words**: Hengduan Mountains, *Salvia*, karyotype analysis, chromosome evolution, phylogeny



横断山区位于“世界屋脊”青藏高原东南部，包括云南西北部、四川西部、西藏东部、青海南部以及甘肃西南部地区，面积约 36.4 万 $km^2$(李炳元, 1987)。横断山区因南北走向的山脉，海拔落差大，以及受印度洋暖湿气流的影响，形成了显著的沿海拔梯度变化的多种气候类型的生态环境，包括低海拔的干热河谷地区，中海拔的暖温带地区及高海拔的高山冰缘带地区，形成了横断山区丰富的物种多样性。正因如此，横断山区成为全球重要的生物多样性研究中心之一，也因其物种多样性丰富，成为研究物种起源演化的天然实验基地(杨勤业等, 1988;曾广权等, 2000; 姚永慧等, 2010)。

唇形科(Lamiaceae)鼠尾草属(*Salvia*)是世界性广布的大属，广泛分布于中美洲、南美洲、西亚和东亚地区(Walker & Sytsma, 2007)，全世界范围共计约 980 种(Hu et al., 2018)。西亚和地中海地区被认为是鼠尾草的原始分布中心(Masoud et al., 2010)。原产中国的鼠尾草种类有 81 种 24 变种，横断山区有 37 种 13 变种(中国科学院青藏高原综合科学考察队, 1993; Li & Hedge, 1994)。该属物种在生长形态、花形态等方面表现出显著的多样性。吴征镒和李锡文(1982)认为鼠尾草属的唇形花冠更适应昆虫传粉，因此是更进化和特化的类群，并且认为横断山地区是该属形成和多样化的中心之一。尽管部分研究人员对产于西喜马拉雅地区的鼠尾草进行了细胞学研究，但横断山区鼠尾草属植物的细胞学资料仍研究较少(Gill, 1970; Bhattacharya, 1978; Haque, 1980)。

细胞学核型分析是研究植物进化地位及种群间亲缘关系常用的方法之一，通过对中期细胞染色体组的数目、倍性、形态、大小、着丝粒位置、随体有无等特征分析，再通过计算臂比、染色体长度比、着丝粒指数、染色体长度变异系数以及着丝粒指数变异系数等一系列核型参数计算，来对物种进行分类学研究，分析其亲缘关系和进化地位。研究资料表明鼠尾草属的染色体数目具有多样化：Stewart(1939)对美国加利福尼亚地区 5 个亚属 18 种鼠尾草属植物的染色体数目进行研究，发现染色体基数为 x = 8、12、16。Fujita(1970)根据其染色体基数为 x = 11，认为鼠尾草属是唇形科中最原始的属，并且是唇形科中染色体基数最高的属。Alberto 等(2003)研究了阿根廷地区 12 种鼠尾草属植物有丝分裂时期染色体形态和减数分裂时期的染色体，发现 *S. coccinea*、*S. farinacea*、*S. involucrate* 和 *S. microphylla* 为二倍体物种，染色体数目为 2n = 2x = 22、20、22、22；*S. cardiophylla*、*S. procurrens*、*S. splendens* 和 *S. uliginosa* 为四倍体物种，染色体数目分别为 2n = 4x = 44、52、44、52；*S. stachydifolia*，*S. pallida* 为六倍体物种，染色体数目为 2n = 6x = 66；

*S. guaranitica* 和 *S. rypara* 为八倍体物种，染色体数目为 2n = 8x = 88。Gill(1970)对喜马拉雅山系的 20 种鼠尾草属植物的染色体进行研究，发现鼠尾草属植物的染色体基数具有多样性，其中 x = 6、7、8 是常见的染色体基数。Özdemİr 和Şenel(1999)报道了 *S. sclerea* 的染色体数目 2n = 22。赵红霞等(2006)报道了我国鼠尾草属植物 *S. miltiorrhiza*、*S. flava* 和 *S. evansiana* 的染色体数目 2n = 16 和 32。Yang 等(2009)对我国横断山脉地区的 6 种鼠尾草属植物的染色体数目进行了研究，发现 *S. przewalskii* 为四倍体，染色体数目为 2n = 4x = 32；*S. castanea*、*S. flava*、*S. trijuga* 和 *S. yunnanensis* 为二倍体，染色体数目为 2n = 2x = 16，染色体基数为 x = 8。中国的物种染色体基数主要为 x = 8。经统计，全世界范围内鼠尾草属植物染色体数据已报道 223 种(Ranjbar et al., 2015; Rice et al., 2015)，中国地区鼠尾草属染色体数据已报道 26 种(含 4 变种 1 变型)；其中横断山区 15 种(中国科学院青藏高原综合科学考察队, 1993; 赵红霞等, 2006; Yang et al., 2009; 洪培培等, 2011; Yang et al., 2014)。鼠尾草属细胞学研究依旧十分薄弱，而鼠尾草属的分子系统学分类与形态学分类的差异较大，细胞学研究可以为该属物种演化形成及物种多样性提供重要的参考资料(Adams, 1968; Weiss & Schneeweiss, 2013)。

鼠尾草属的属下分类系统自建立以来就一致存在争议，Bentham(1832)最早构建了鼠尾草属的属下分类系统，此后联合其他新发表的类群整合为 4 个亚属。此外 Briquet 在 Bentham 基础上进行修正，将鼠尾草属划分为 8 亚属 17 个组(Engler & Prantl, 1899)，以上两个系统仍然是目前世界鼠尾草属分类相对完整的属下分类系统。国产鼠尾草属的分类系统由吴征镒和李锡文(1982)在 Briquet 系统基础上建立，他们依据鼠尾草属植物雄蕊特征将国产鼠尾草分为 3 个亚属，即：弧隔鼠尾草亚属、荔枝草亚属和鼠尾草亚属，以及组和系的分类等级。随着分子生物学的发展，众多学者利用核基因组和叶绿体基因组进行分子系统树的构建(Walker & Sytsma, 2007; Hu et al., 2018)，以此来对鼠尾草属进行修订。

为补充鼠尾草属植物细胞学染色体数据，在细胞学水平与基因组水平共同探讨鼠尾草属内分类学地位，本研究通过收集鼠尾草属已报道染色体数据资料，并对横断山区 6 种 8 居群鼠尾草属植物进行核型分析，还通过叶绿体基因组片段构建的鼠尾草属物种系统发育树，结合细胞学资料，讨论形态分类学与分子系统学之间的分类关系，探究横断山区物种的在细胞学水平的进化方式。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本研究中使用的鼠尾草属植物种子均采自横断山区，种子详细信息见表 1，凭证标本均存放在中国科学院昆明植物研究所标本馆(KUN)，细胞学凭证装片存放在云南师范大学(YNNU)植物细胞学研究室。

**表 1 实验材料信息**

Table 1 Experimental material information in this study

| 材料编号 Material code | 凭证标本号 Voucher specimen code | 中文名 Chinese name | 拉丁名 *Scientific name* | 采集地 Collecting location | 海拔 Altitude (m) |
|---|---|---|---|---|---|
| a | MS17-509 | 甘西鼠尾草 | *Salvia przewalskii* Maxim. | 四川宝兴(BX) Baoxing, Sichuan | 3 763 |
| b | SunH-07ZX-3021 | 甘西鼠尾草 | *S. przewalskii* Maxim. | 云南香格里拉(SL) Shangri-La, Yunnan | 3 180 |
| c | MS17-405 | 黄花鼠尾草 | *S. flava* Forrest ex Diels. | 四川宝兴(BX) Baoxing, Sichuan | 2 286 |
| d | SunWG-0228 | 黄花鼠尾草 | *S. flava* Forrest ex Diels. | 云南丽江(LJ) Lijiang, Yunnan | 3 800 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| e | SLZ-104 | 毛地黄鼠尾草 | *S. digitaloides* Diels. | 云南丽江(LJ)<br>Lijiang, Yunnan | 3 282 |
| f | SunWG-0212 | 西藏鼠尾草 | *S. wardii* Stib. | 西藏昌都(CD)<br>Changdu, Xizang | 4 120 |
| g | YNNU19-248 | 雪山鼠尾草 | *S. evansiana* Hand.-Mazz. | 云南德钦(DQ)<br>Deqen, Yunnan | 4 484 |
| h | MS17-678 | 粘毛鼠尾草 | *S. roborowskii* Maxim. | 四川乡城(XC)<br>Xiangcheng, Sichuan | 3 618 |

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 染色体制片步骤

选取发育良好、籽粒饱满的种子，用蒸馏水清洗种子后放到潮湿滤纸培养皿中，置于 24℃恒温箱中萌发，待其根长至 1 cm 左右将根取下，装入有 0.03％的 8-羟基喹啉的离心管中，常温避光预处理 1.5～2.5 h。放入装有现配卡诺氏固定液(冰乙酸：无水乙醇 ＝1：3)的离心管中，置于 4 ℃冰箱中冷藏 20 h 后转移至 70％酒精中 3 h。用 1 mol·L 盐酸于 60 ℃下解离 11 min。以上步骤之间需用蒸馏水反复冲洗 3 次将试剂洗净，最后放入装有卡宝品红的离心管中染色 2 h。通过压片把制作好的片子放到光学显微镜(Olympus BX-53)下镜检，并挑选分裂中期细胞染色体形态清楚的细胞观察拍照。将染色体形态完好并分散均匀的片子使用中性树胶封装，制作永久封片。

#### 1.2.2 核型分析方法

根据核型分析标准统计 30 个以上的中期细胞染色观察记录超过 85%细胞恒定的染色体数目为该种的最终染色体数目(李懋学和陈瑞阳, 1985)。选取 6 张染色体较为分散，形态良好且位于同一细胞内的图片，利用 Adobe photoshop CC 添加 5 μm 标尺、裁剪及调整后利用染色体测量软件 Karyotype V.2 量取 6 个细胞的染色体长短臂长度、臂比等数据(Altinordu et al., 2016)，进行同源染色体核型配对分析，然后根据 6 个细胞的核型数据利用 Excel 软件进行综合配对，并依据综合配对结果绘制核型模式图，并根据李懋学和陈瑞阳(1985)、Paszko(2006)、Peruzzi 和 Eroglu(2013)、Peruzzi 和 Altnordu(2014)等人的标准确定各个种的基本核型参数。并根据 Levan 等(1964)的染色体分类系统和 Stebbins(1971)的标准确定间期核类型、核型公式和染色体的核型不对称类型等(孙文光等, 2019)。

#### 1.2.3 鼠尾草属基数与倍性统计

本研究通过整理染色体数据库 CCDB(Rice et al., 2015)结合 Ranjbar 等人(2015)的统计研究，分别对鼠尾草属的染色体基数与倍性在世界、中国和横断山区范围内进行了统计，并进行统计图的绘制。

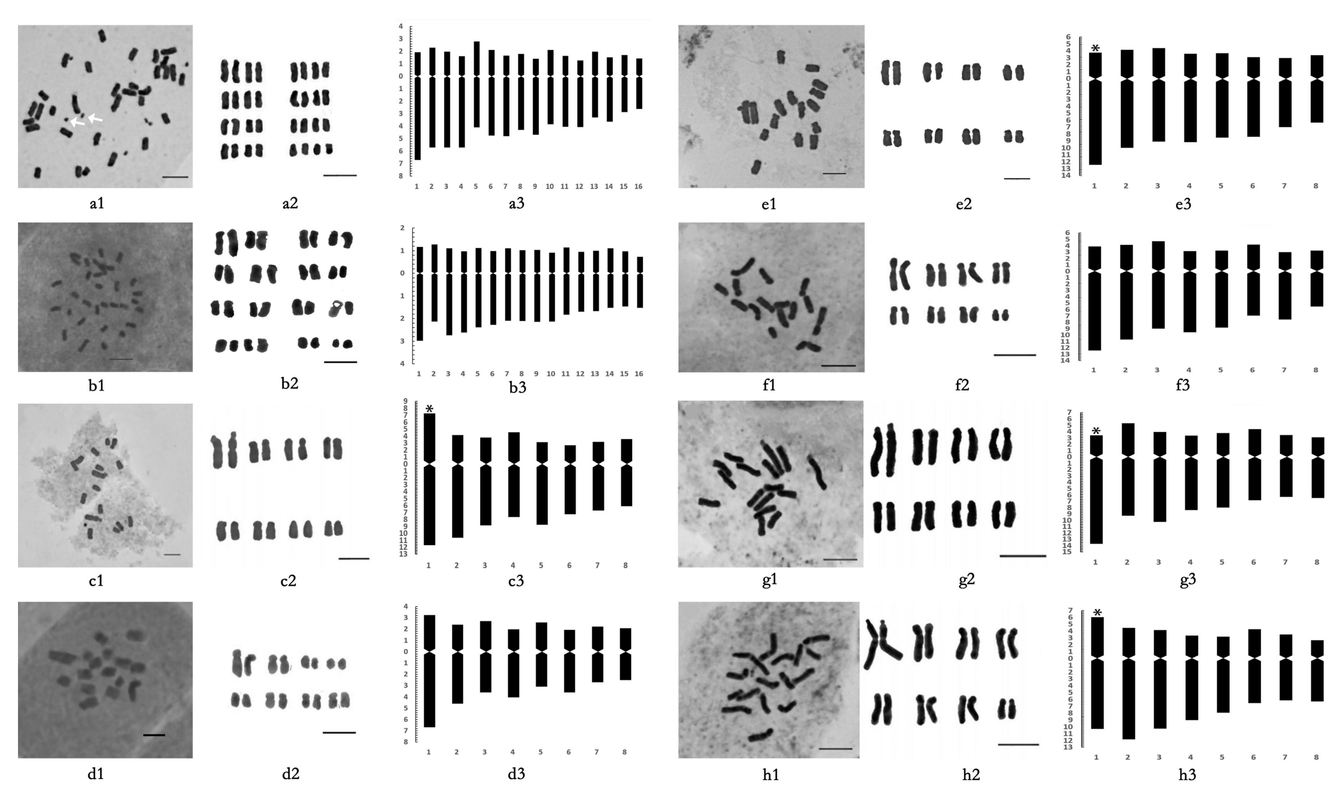
#### 1.2.4 系统发育分析

通过美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)官方网站(https://www.ncbi.nlm.nih.gov)下载原产中国的并记录在《中国植物志》和 *Flora of China* 中的鼠尾草属植物叶绿体标记基因数据(*psbA-trnH*、*TrnL-TrnF*、*rbcL*、*ycf1-rps15*)，将其导入 Geneious 9.0.2 软件连接，并在此软件中对下载自 NCBI 的叶绿体数据进行处理，分别对不同基因序列开展多重 MAFFT 比对(Kazutaka et al., 2002)及多基因联合处理(Concatenate Sequences or Alignments)。使用 IQ-TREE V.2.1.3 版本构建进化树，经过检测最优模型为“TVM+F+R2”模型(Nguyen et al., 2015)，通过文献查阅设置龙口花(*Horminum pyrenaicum*)作为外类群，基于最大似然法(ML)构建进化树(Ultrafast bootstrap approximation consensus tree)。通过查询文献，将所有已经发表的染色体数据与本研究中鼠尾草属植物的染色体数据共同在分子进化树上进行体现。

## 2 结果与分析

### 2.1 六种八居群鼠尾草属植物核型特征

染色体形态图与核型模式图如图 1 所示，核型参数结果见表 2。由染色体形态图、核型模式图及核型分析结果显示，除甘西鼠尾草(*S. przewalskii*)为同源四倍体外，其他 5 种鼠尾草属植物皆为基数 x = 8 的二倍体。着丝粒位置以近中部着丝粒(sm)为主，也有中部着丝粒(m)和近端部着丝粒(st)。核型不对称性除采自四川宝兴的甘西鼠尾草为 3B 型和采自云南丽江的黄花鼠尾草(*S. flava*)为 2B 型外，其余居群核型不对称性均为 3A 型。平均臂比范围在 1.62～2.48，核型不对称系数在 61.75%～70.95%，最长/最短染色体为 1.66～2.17，臂比>2:1 染色体的百分比为 25.00～87.50。其中黄花鼠尾草、粘毛鼠尾草(*S. roborowskii*)、雪山鼠尾草(*S. evansiana*)、毛地黄鼠尾草(*S. digitaloides*)皆在第一对染色体短臂上具随体，而采自四川宝兴甘西鼠尾草具 4～6 条数目不定的 B 染色体，这是首次在甘西鼠尾草内发现 B 染色体。6 种 8 居群鼠尾草属植物的间期核型均为简单染色中心型。




**a.** 甘西鼠尾草(四川宝兴)(白色箭头指示为 B 染色体)；**b.** 甘西鼠尾草(云南香格里拉)；**c.** 黄花鼠尾草(四川宝兴)；**d.** 黄花鼠尾草(云南丽江)；**e.** 毛地黄鼠尾草(云南丽江)；**f.** 西藏鼠尾草(西藏昌都)；**g.** 雪山鼠尾草(云南德钦)；**h.** 粘毛鼠尾草(四川乡城)。

**a.** *S. przewalskii*(Baoxing, Sichuan) (The black arrow indicates the B chromosome); **b.** *S. przewalskii*(Shangri-La, Yunnan); **c.** *S. flava*(Baoxing, Sichuan;); **d.** *S. flava*(Lijiang, Yunnan); **e.** *S. digitaloides*(Lijiang, Yunnan); **f.** *S. wardii*(Changdu, Xizang); **g.** *S. evansiana*(Deqen, Yunnan); **h.** *S. roborowskii*(Xiangcheng, Sichuan).

**图 1 六种八居群鼠尾草属植物中期细胞图、配对染色体形态图及模式图**

Fig.1 Metaphase cell, paired chromosome morphology and karyogram of six species of *Salvia* in eight populations

**表 2 鼠尾草属植物的染色体核型特征**

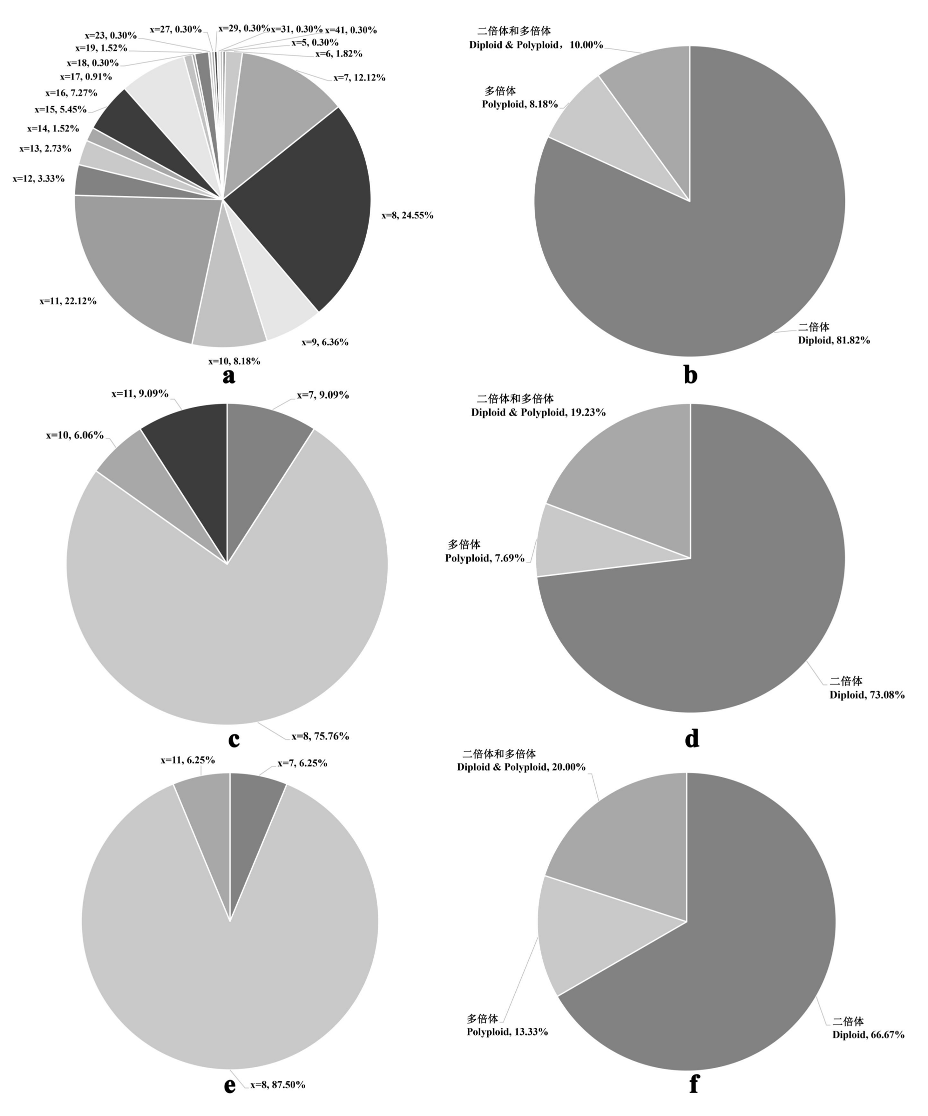
Table 2 Karyotype characteristics of *Salvia* in this study

| 材料编号 Material | 核型公式 Karyotype formula | 平均臂比 MAR | 最长/最短染色体 | 臂比>2:1 染色体的百分比 Ratio of | 核型 KA | 核型不对称系数 | 染色体指数变异系数 | 染色体长度变异系数 | 平均着丝粒不对称系 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|

| number | | | LR | chromosome arm ratio (%) | | As.K% | $CV_{CI}$ | $CV_{CL}$ | 数 $M_{CA}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | 2n = 4x ＝32 = 4m + 20sm + 8st | 2.48 | 2.14 | 68.75 | 3B | 70.72 | 19.92 | 20.23 | 41.44 |
| b | 2n=4x=32=26sm + 6m | 2.02 | 1.84 | 56.25 | 3A | 66.68 | 13.41 | 17.21 | 33.51 |
| c | 2n = 2x ＝16 = 4m(2sat) + 10sm + 2st | 2.22 | 1.97 | 62.50 | 3A | 67.68 | 15.33 | 25.12 | 35.35 |
| d | 2n=2x=16=8m + 8sm | 1.62 | 2.17 | 25.00 | 2B | 61.75 | 15.26 | 26.72 | 23.50 |
| e | 2n = 2x = 16 = 2st(2Sat) + 14sm | 2.46 | 1.66 | 87.50 | 3A | 70.95 | 11.96 | 17.29 | 41.89 |
| f | 2n = 2x ＝16 = 2m + 10sm + 4st | 2.48 | 1.86 | 62.50 | 3A | 70.51 | 17.82 | 19.45 | 41.02 |
| g | 2n = 2x ＝16 = 2m(2sat) + 12sm + 2st | 2.34 | 1.79 | 62.50 | 3A | 69.27 | 19.18 | 20.80 | 38.54 |
| h | 2n = 2x ＝16 = 2m(2sat) + 12sm + 2st | 2.24 | 1.83 | 62.50 | 3A | 68.34 | 15.48 | 23.04 | 36.68 |

**2.2 鼠尾草属基数与倍性统计结果**

染色体基数与染色体倍性统计结果如图 2 所示，从全世界范围来看，染色体基数以 x =7、8、9、10、11 为主，x = 8 和 x = 11 合计约占总数的一半，染色体倍性主要以二倍体物种为主；产自中国地区的鼠尾草属物种染色体基数有 x = 7、8、10、11，主要以 x = 8 为主，染色体倍性主要以二倍体为主。相比起世界范围内的鼠尾草属，中国地区特别是横断山区的染色体基数更加集中，且均以 x = 8 为主要基数类型，染色体倍性统计中，无论在哪个范围内统计，二倍体物种都具有绝对的比例优势。



**a**. 世界鼠尾草属染色体基数统计；**b.** 世界鼠尾草属染色体倍性统计；**c.** 中国鼠尾草属染色体基数统计；**d.** 中国鼠尾草属染色体倍性统计；**e.** 横断山区鼠尾草属染色体基数统计；**f.** 横断山区鼠尾草属染色体倍性统计。

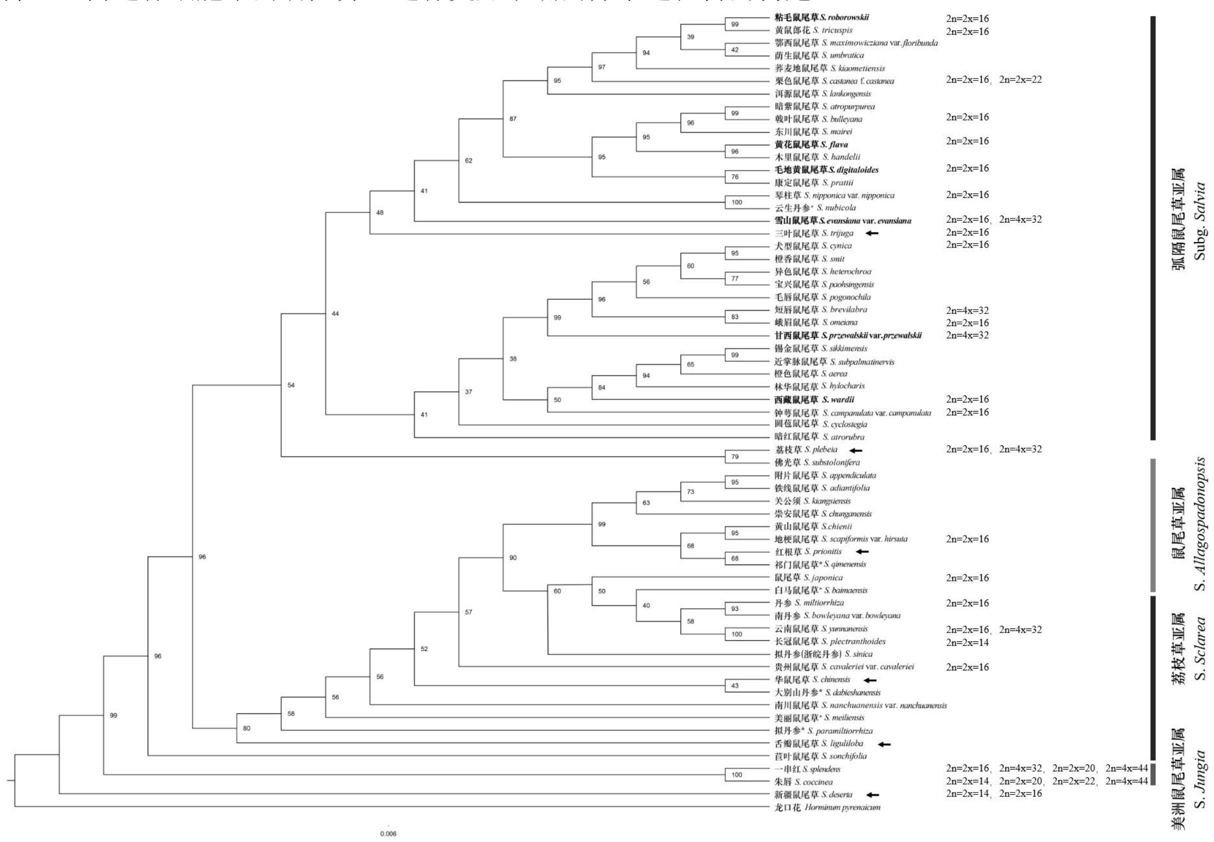
**a**. Chromosome cardinal number of *Salvia* in the world; **b**. Chromosome ploidy of *Salvia* in the world; **c.** Chromosome cardinal numbers of *Salvia* in China; **d.** Chromosome ploidy of *Salvia* in China; **e.** Chromosome cardinal number of *Salvia* in Hengduan Mountains; **f.** Chromosome ploidy statistics of *Salvia* in the Hengduan Mountains.

**图 2 鼠尾草属染色体基数与倍性所占比例条形图**

Fig. 2 The chromosome base number and polyploidy ratio bar chart of *Salvia*

## 2.3 系统发育分析结果

通过构建国产鼠尾草属 62 种分子进化树(图 3)，将鼠尾草属植物的染色体核型数据与系统发育树进行匹配，发现国产鼠尾草属植物染色体基数以 x = 8 为主，倍性以二倍体为主。分子进化树在弧隔鼠尾草亚属(Subgen. *Salvia*)和美洲鼠尾草亚属(Subgen. *Jungia*)这两分支对于形态学分类的支持度最高，除三叶鼠尾草(*S. trijuga*)外，均属于弧隔鼠尾草亚属，美洲鼠尾草亚属全部物种单独聚为一支；而荔枝草亚属(Subgen. *Sclarea*)是支持率较低的亚属。染色体基数在弧隔鼠尾草亚属这一分支上，已报道的染色体基数除栗色鼠尾草(*S. castanea*)有 x = 8 和 x = 11 两种染色体基数外，其余的物种均为 x = 8，出现染色体组加倍的物种有雪山鼠尾草、短唇鼠尾草(*S. brevilabra*)和甘西鼠尾草，其中雪山鼠尾草又同时拥有二倍体物种。另外，雪山鼠尾草、三叶鼠尾草、圆苞鼠尾草(*S. cyclostegia*)、暗红鼠尾草(*S. atrorubra*)和新疆鼠尾草(*S. deserta*)这 5 个物种在进化树上表现出在各自的大进化支内都处在相对独立的单一分支中，与各自分支中的大部分物种具有相对较远的亲缘关系，且三叶鼠尾草与新疆鼠尾草没有与形态学分类中所属亚属的大部分物种聚为一支。美洲鼠尾草亚属的染色体基数和倍性均呈现除多样性的特点。而鼠尾草亚属(Subgen. *Allagospadonopsis*)和荔枝草亚属中的染色体报导相对较少，且在与分子树匹配上也没有很好的支持，亟需进行细胞学的研究并且进行更加准确的分子进化树的构建。




黑色箭头表示非标识亚属物种；*表示 *Flora of China* 中的 6 种鼠尾草属植物，但未记录在《中国植物志》中；

加粗标识物种表示本研究中进行细胞学分析的物种。

Black arrow means non-subgenus species; * means six *Salvia* species in *Flora of China* (FOC), but not recorded in *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*; Species identified in bold means the species for cytological analysis in this study.

**图 3 中国地区分布鼠尾草属植物基于叶绿体 DNA 联合数据构建的分子系统树(分支节点数字代表可能性)**

Fig.3 Molecular phylogenetic tree of *Salvia* from China based on combined chloroplast DNA data(Branch node numbers represent possibilities)

## 3 讨论与结论

鼠尾草属作为唇形科的冠部进化分支，在世界各地广泛分布，与其具有较高的适应能力密不可分。鼠尾草属植物的适应进化特性是由遗传物质对环境的适应造成的，因此鼠尾草属植物的进化特征也与其核型进化有关(黄艳波等, 2014)。本研究通过收集全世界范围内的鼠尾草属染色体数据报道，统计得出，全世界范围内，鼠尾草属植物染色体数据报道率约为 23%，中国地区报道率为 32.10%，横断山区报道率为 40.54%。收集整理中国地区的染色体核型数据并通过 NCBI 下载叶绿体基因来构建中国地区鼠尾草属植物的分子进化树，并对横断山区的 6 种 8 居群鼠尾草属植物进行细胞学实验获得核型数据，从细胞学水平探讨鼠尾草属下分类关系，补充鼠尾草属的染色体数据。本研究西藏鼠尾草(*S. wardii*)核型为首次报道，核型公式为 2n = 2x = 16 = 2m(2sat) + 12sm + 2st。雪山鼠尾草(*S. evansiana*)在之前的研究中存在二倍体和四倍体两种倍性的个体(Chen et al., 2018)，本研究中采自云南德钦的居群为二倍体，其余 4 种核型结果与前人研究一致，甘西鼠尾草(*S. przewalskii*)为四倍体物种，黄花鼠尾草(*S. flava*)、毛地黄鼠尾草(*S. digitaloides*)、粘毛鼠尾草(*S. roborowakii*)为二倍体物种，且 6 种鼠尾草属植物染色体基数均为 x = 8，为属内出现频率最高的基数类型，染色体数目也为最普遍的 16 条与 32 条(Hu et al., 2016)。另外，通过统计染色体倍性，我们发现鼠尾草属中海拔相对较高的横断山区的多倍化比例与中国地区的多倍化比例基本持平，这说明多倍化可能并不是植物适应高山环境的唯一机制(聂泽龙等, 2004; 杨扬和孙航, 2006)。对于染色体倍性随着统计范围的减小，二倍体比例逐渐降低，推测是由于数据统计量级上巨大的差异造成的。

本研究构建的鼠尾草属分子进化树建树结果与前人研究结果(Hu et al., 2018)相似，可以较为清晰地在分子进化树分支上划分出四个亚属，但各个亚属会有个别物种掺杂在其他亚属的分支中，特别是荔枝草亚属下物种的分支关系还有待进一步研究。弧隔鼠尾草亚属的分支最为清晰，且又分为两支，但此分子系统分类学下的亚属关系与传统分类学关系不一致。本研究 6 种鼠尾草属植物除粘毛鼠尾草为一年生亚组，其余 5 种均为多年生亚组，分散于 4 个不同的支系，分别为隶属于短冠鼠尾草系的雪山鼠尾草，隶属于栗色鼠尾草系的黄花鼠尾草，隶属于毛地黄鼠尾草系的毛地黄鼠尾草和甘西鼠尾草，隶属于西藏鼠尾草系的向鼠尾草。分子系统构建表明粘毛鼠尾草、黄花鼠尾草、毛地黄鼠尾草以及雪山鼠尾草聚为一支，但雪山鼠尾草亲缘关系相对较远，甘西鼠尾草与西藏鼠尾草聚为一支。但是，粘毛鼠尾草与多年生亚组的 3 种鼠尾草属植物(黄花鼠尾草、毛地黄鼠尾草、雪山鼠尾草)较甘西鼠尾草和西藏鼠尾草亲缘关系较近，而同属一系的毛地黄鼠尾草与甘西鼠尾草却亲缘关系较远，推测可能与甘西鼠尾草染色体组加倍有关。而 Chen 等(2018)的研究中发现雪山鼠尾草既有二倍体个体又有四倍体个体，但本研究中雪山鼠尾草为二倍体个体，从分子系统树的分析上看，无论是基部类群还是末类群，鼠尾草属染色体大都是二倍体(2n = 2x = 16)，主要是在二倍体水平上的进化，且染色体倍性的统计中，二倍体物种具有绝对的比例优势，徐波等(2020a, b)的研究也表明在石竹科(Caryophyllaceae)中有多种高山植物维持二倍体进化，并推测二倍体水平上的染色体结构和核型进化是青藏高原地区物种进化的一个重要机制，因此本研究认为多倍化不是鼠尾草属的主要进化途径。

本研究丰富了横断山区鼠尾草属物种的染色体核型数据，验证了多倍化可能并不是植物适应高山环境的唯一机制，论证了多倍化可能不是鼠尾草属的主要进化途径，构建的进化树支持前人分类学结果，分子系统树与染色体数据的结合分析，为今后深入研究该属物种的核型进化提供了探索，为开展祖先物种染色体基数推演分析补充了基础数据，但横断山地区的鼠尾草染色体数据仍旧不充分，这可能造成统计学意义较差，染色体数据的补充仍旧十分重要。

**参考文献：**


ADAMS RP, 1968. Chromosome numbers in *Hypericum* and related genera[J]. Brittonia, 20(2): 95-106.

ALBERTO CM, SANSO AM, XIFREDA CC, 2003. Chromosomal studies in species of *Salvia* (Lamiaceae) from Argentina[J]. Bot J Linn Soc, 141(4): 483-490.

ALTINORDU F, PERUZZI L, YU Y, et al., 2016. A tool for the analysis of chromosomes: KaryoType[J]. Taxon, 65(3): 586-592.

BENTHAM G, 1832. *Labiatarum* genera et species: or, a description of the genera and species of plants of the order Labiatae; with their general history, characters, affinities, and geographical distribution[M]. Bavaria: Ridgway: 190-312.

BHATTACHARYA S, 1978. Study of some Indian members of the genus *Salvia* with references to the cytological behaviour[J]. Cytologia, 43(2): 317-324.

CHEN YP, ZHAO F, PENG H, et al., 2018. Chromosome numbers of 24 taxa of Lamiaceae from Southwest China[J]. Caryologia, 71(4): 298-306.

ENGLER A, PRANTL KAE, 1899. Die Natürlichen pflanzenfamilien nebst ihren gattungen und wichtigeren arten, insbesondere den nutzpflanzen, unter mitwirkung zahlreicher hervorragender fachgelehrten begründet[M]. Leipzig: W. Engelmann: 270-275.

FUJITA Y, 1970. Evolution of chromosome numbers in the Labiaceae, especially its relation to the classification and phylogeny of the genus *Salvia* based on constituents of essential oils[J]. Acta Phytotax Geobot, 24(1): 113-121.

GILL LS, 1970. Cytological observations on West-Himalayan Labiatae: Tribe Stachydeae[J]. Phyton Vicente Lopez, 27(2): 177-184.

HAQUE MS, 1980. Karyotypes and chromosome morphology in the genus *Salvia* Linn[J]. Cytologia, 45(4): 627-640.

HONG PP, YANG JY, CHEN HW, et al., 2011. Optimization of chromosome sectioning and chromosome counting of *Salvia splendens*[J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 31(10): 2124-2128.[洪培培，杨建玉，陈洪伟，等，2011. 一串红染色体制片技术优化与计数[J]. 西北植物学报，31(10)：2124-2128.]

HU GX, XIANG CLEI, LIU ED, et al., 2016.Karyotypic study of eighteen taxa of *Salvia* Lamiaceae from China[J]. Caryologia, 69(1): 50-57.

HU GX, TAKANO A, DREW BT, et al., 2018. Phylogeny and staminal evolution of *Salvia* (Lamiaceae, Nepetoideae) in East Asia[J]. Ann Bot 122(4): 649-668.

HUANG YB, WEI YK, GE BJ, et al., 2014. Pollination mechanisms of genus *Salvia* (Lamiaceae) in East Asia (China)[J]. Acta Ecol Sin, 34(9): 2282-2289.[黄艳波，魏宇昆，葛斌杰，等，2014. 鼠尾草属东亚分支的传粉模式[J]. 生态学报，34(9)：2282-2289.]

KAZUTAKA K, KAZUHARU M, KEI-ICHI K, et al., 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform[J]. Nucl Acid Res, 30(14): 3059-3066.

LEVAN A, FREDGA K, SANDBERG AA, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 52(2): 201-220.

LI BY, 1987. On the boundaries of the Hengduan Mountains[J]. J Mt Res, 5(2): 74-82.[李炳元，1987. 横断山脉范围探讨[J]. 山地研究，5(2)：74-82.]

LI HW, HEDGE IC, 1994. Flora of China : Vol. 17[M]. Beijing & St. Louis: Science Press & Missouri Botanical Garden Press: 195–222.

LI MX, CHEN RY, 1985. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants[J]. Wuhan Bot Res, 3(4): 297-302.[李懋学，陈瑞阳，1985. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物学研究，3(4)：297-302.]

MASOUD S, ALIJANPOO B, KHAYYAMI M, 2010. Contribution to cytology of genus *Salvia* L. (Lamiaceae) in Iran[J]. Caryologia, 63(4): 405-410.

NGUYEN LT, SCHMIDT HA, VON HA, et al., 2015. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. Mol Biol Evol, 32(1): 268-274.

NIE ZL, SUN H, GU ZJ, 2004. A survey of chromosome numbers from Angiosperms of the Hengduan Mountains, S·W·China[J]. Acta Bot Yunnan, 26(1): 35-57.[聂泽龙，孙航，顾志建，2004. 横断山区被子植物染色体研究概况[J]. 云南植物研究，26(1)：35-57.]

ÖZDEMİR C, ŞENEL G, 1999. The morphological, anatomical and karyological properties of *Salvia sclarea* L.[J]. Turk J Botany, 23(1): 7-18.

PASZKO B, 2006. A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices[J]. Plant Syst Evol, 258(1-2): 39-48.

PERUZZI L, EROGLU H, 2013. Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure[J]? Comp Cytogenet, 7(1): 1-9.

PERUZZI L, ALTNORDU F, 2014. A proposal for a multivariate quantitative approach to infer karyological relationships among taxa[J]. Comp Cytogenet, 8(4): 337-349.

QINGHAI-TIBET PCSET, Chinese Academy of Sciences, 1993. Vascular plants of Hengduan Mountains Area: Vol. 2[M]. Beijing: Science Press: 1694-1706.[中国科学院青藏高原综合科学考察队，1993. 横断山区维管植物(下册)[M]. 北京：科学出版社：1694-1706.]

RANJBAR M, PAKATCHI A, BABATAHERI Z, 2015. Chromosome number evolution, biogeography and phylogenetic relationships in *Salvia* (Lamiaceae)[J]. Webbia, 70(2): 293-312.

RICE A, GLICK L, ABADI S, et al., 2015. The Chromosome Counts Database (CCDB) - a community resource of plant chromosome numbers[J]. New Phytol, 206(1): 19-26.

STEBBINS GL, 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants[M]. London: Edward Arnold: 11-21.

STEWART WS, 1939. Chromosome numbers of Californian *Salvias*[J]. Amer J Bot, 26(9): 730-732.

SUN WG, SUN H, LI ZM, 2019. Chromosome data mining and its application in plant diversity research[J]. Plant Sci J, 37(2): 260-269.[孙文光，孙航，李志敏，2019. 染色体数据的挖掘及其在植物多样性进化研究中的利用[J]. 植物科学学报，37(2)：260-269.]

WALKER JB, SYTSMA KJ, 2007. Staminal evolution in the genus *Salvia* (Lamiaceae): molecular phylogenetic evidence for multiple origins of the staminal lever[J]. Ann Bot, 100: 375-391.

WEISS SH, SCHNEEWEISS GM, 2013. Karyotype diversity and evolutionary trends in angiosperms[J]. Plant Genom Divers, 2(1): 209-230.

WU ZY, LI XW, 1982. On the evolution and distribution in Labiatae[J]. Acta Bot Yunnan, 4(2): 97-118.[吴征镒，李锡文，1982.论唇形科的进化与分布[J]. 云南植物研究，4(2)：97-118.]

XU B, CHEN GF, LI ZM, 2020a. Cytological study on four species of *Arenaria* from Qinghai-Tibet Plateau[J]. Plant Sci J, 38(6): 723-729.[徐波，陈光富，李志敏，2020a. 青藏高原 4 种无心菜属植物的细胞学研究[J]. 植物科学学报，38(6)：723-729.]

XU B, SUN WG, LI ZM, 2020b. Karyological study of five cushion plants of Caryophyllaceae in

Qinghai-Tibet Plateau[J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 40(7): 1157-1163.[徐波，孙文光，李志敏，2020b. 青藏高原 5 种石竹科垫状植物的核型研究[J]. 西北植物学报，40(7)：1157-1163.]

YANG QY, ZHENG D, LIU YH, 1988. Physico-geographical feature and economic development of the dry valleys in the Hengduan Mountains, Southwest China[J]. J Arid Land Resourc Environ, 2(2): 17-24.[杨勤业，郑度，刘燕华，1988. 横断山地区干旱河谷的自然特点及其开发利用[J]. 干旱区资源与环境，2(2)：17-24.]

YANG Y, SUN H, 2006. Advances in the functional ecology of alpine and arctic plants[J]. Acta Bot Yunnan, 28(1): 43–53. [杨扬，孙航，2006. 高山和极地植物功能生态学研究进展[J]. 云南植物研究，28(1)：43-53.]

YANG ZJ, ZHANG L, ZHAO HX, et al., 2009. Chromosome numbers of some species of *Salvia* (Lamiaceae) from the Sichuan Province, China[J]. Nord J Bot, 27(4): 287-291.

YANG ZY, XUN G, YUE ZP, 2014. Cytological study of six *Salvia* species (Lamiaceae) from the Hengduanshan Mountains region of China[J]. Caryologia, 57(4): 360-366.

YAO YH, ZHANG BP, HAN F, et al., 2010. Spatial pattern and exposure effect of altitudinal belts in the Hengduan Mountains[J]. Mountain Res, 28(1): 11-20.[姚永慧，张百平，韩芳，等，2010. 横断山区垂直带谱的分布模式与坡向效应[J]. 山地学报，28(1)：11-20.]

ZENG GQ, GUO HG, DENG Q, et al., 2000. Bio-diversity protection in East Himalayas-Hengduan Mountain[J]. Yunnan Environl Science, 19(1): 14-18.[曾广权，郭慧光，邓晴，等，2000. 中、缅、印交界地区(东喜马拉雅山-横断山)生物多样性保护研究[J]. 云南环境科学，19(1)：14-18.]

ZHAO HX, ZHANG L, FAN X, et al., 2006. Studies on chromosome numbers of *Salvia miltiorrhiza*, *S. flava* and *S. evansiana*[J]. Chin J Chin Mat Med, 31(22): 1847-1848.[赵红霞，张利，凡星，等，2006. 丹参、黄花鼠尾和雪山鼠尾染色体数目的研究[J]. 中国中药杂志，31(22)：1847-1848.]